

Rev Bras Fisiol Exerc 2019;18(4):195-208

doi: [10.33233/rbfe.v18i4.3237](https://doi.org/10.33233/rbfe.v18i4.3237)

#### ARTIGO ORIGINAL

**Estereologia e morfometria do tecido muscular-esquelético de animais submetidos a um programa de treinamento de força e suplementação de creatina durante 9 semanas**  
*Stereology and morphometry of the musculoskeletal tissue of animals submitted to a strength training program and creatine supplementation for 9 weeks*

Victor Augusto Ramos Fernandes\*, Felipe Lovaglio Belozo\*\*, Marcelo Conte\*\*\*, Eduardo José Caldeira\*

*\*Laboratório de Morfologia dos Tecidos, Departamento de Morfologia e Patologia Básica, Faculdade de Medicina de Jundiaí, Jundiaí/SP, \*\*Faculdade Network, campus Nova Odessa, Nova Odessa/SP, \*\*\*Escola Superior de Educação Física de Jundiaí, Jundiaí/SP*

Recebido em 16 de setembro de 2019; aceito em 30 de dezembro de 2019.

**Correspondência:** Victor Augusto Ramos Fernandes, Av. dos Expedicionários Brasileiros, 948, 13256-511 Itatiba SP

Victor Augusto Ramos Fernandes: victorramosfernandes@gmail.com

Felipe Lovaglio Belozo: flbelozo@yahoo.com

Marcelo Conte: marcelo.conte.prof@gmail.com

Eduardo José Caldeira: drdcaldeira@gmail.com

#### Resumo

A creatina pode promover efeitos ergogênicos na prática do exercício físico de alta intensidade, entretanto, são encontradas poucas evidências que relatam a respeito dos efeitos morfométricos e estereológicos da associação desses componentes em modelos experimentais. Para isso, foram selecionados 24 ratos Wistar que se encontravam com idade de 15 semanas e estavam sob condições de alimentação e hidratação controladas. Para verificar as modificações morfométricas e estereológicas foi feita a classificação dos animais em quatro grupos: o controle, suplementado, treinamento, e treinamento e suplementado. Os animais dos grupos com suplementação de creatina foram suplementados (via gavagem) nas dosagens de 300 mg/kg de massa corporal durante nove semanas, sendo o período igual de treinamento que os animais que foram treinados estiveram submetidos, com o programa de treinamento baseado nos estudos de Honenberg & Farrar. Após o período de experimentação, os animais repousaram por 48 horas e foram feitas as excisões dos músculos latíssimo do dorso e bíceps braquial, que posteriormente foram submetidos ao protocolo de cortes histológicos em criostato, seguido da coloração em hematoxilina e eosina. Os resultados morfométricos indicaram poucas modificações da área nuclear para os grupos do experimento, apresentando diferença estatística apenas no grupo treinado e suplementado em relação aos outros grupos do estudo. A perimetria sarcoplasmática foi mais evidente também no grupo submetido a ambos tratamentos. A análise estereológica verificou a presença de alguns fagócitos mononucleares no tecido muscular, sem, entretanto, apresentar condições de inflamação tecidual severa. Conclui-se, portanto, que a creatina apresenta efeitos morfométricos mais evidentes quando associada ao treinamento de força.

**Palavras-chave:** exercício; creatina; técnicas histológicas; anatomia e histologia.

#### Abstract

Creatine may promote ergogenic effects in the practice of high intensity exercise. However, there is little evidence to report on the morphometric and stereological effects of the association of these components in experimental models. Twenty-four Wistar rats, aged 15 weeks and under controlled feeding and hydration conditions, were selected. To verify the morphometric and stereological modifications, the animals were classified into four groups: control, supplemented, training, and training and supplemented. Creatine supplemented animals were supplemented (via gavage) at dosages of 300 mg/kg body mass for nine weeks, and the same training period as the

animals that were trained performed a training program based on the studies of Honenberg & Farrar. After the experimentation period, the animals rested for 48 hours and the latissimus dorsi and biceps brachii muscles were excised, which were later submitted to the cryostat histological section protocol, followed by hematoxylin and eosin staining. The morphometric results indicated few modifications of the nuclear area for the groups of the experiment, presenting statistical difference only the trained and supplemented group in relation to the other groups of the study. Sarcoplasmic perimetry was also more evident in the group undergoing both treatments. The stereological analysis verified the presence of some mononuclear phagocytes in the muscular tissue, without, however, presenting conditions of severe tissue inflammation. We concluded, therefore, that creatine has more evident morphometric effects when associated with strength training.

**Keywords:** exercise; creatine; histological techniques; anatomy and histology.

## Introdução

Creatina ou ácido  $\alpha$ -metil-guanidinoacético é uma amina de ocorrência natural exclusiva de células eucarióticas [1]. Encontrada livremente no plasma sanguíneo, citoplasma celular ou fosforilada, nesse último caso, normalmente está na mitocôndria ou em transição dessa organela para o citoplasma da célula [2].

A formação endógena de creatina ocorre por meio de uma série de reações metabólicas que resultam nessa molécula [3]. Inicialmente, a síntese se dá a partir dos aminoácidos arginina, metionina e glicina, processo que envolve duas reações complementares [4]. Na primeira, a enzima glicina amidinotransferase (AGAT) cataliza o aminoácido L-arginina, transferindo-o para a região amino terminal da glicina. O resultado desta etapa é a formação de guanidinoacetato e ornitina. A segunda etapa irá reunir a S-adenosilmetionina ao metilato guanidinoacetato, reação mediada pela enzima guanidinoacetato metiltransferase (GAMT). Ao final desta reação obtém-se creatina e S-adenosil-homocisteína. A síntese endógena ocorre nos rins e no pâncreas, devido à presença em grandes quantidades da enzima AGAT. No fígado, observa-se elevada a presença de GAMT, contudo pode ser diminuída em caso de consumo exógeno elevado de creatina [5].

Tal consumo é observado com frequência em atletas e participantes de atividade e treinamentos que envolvem a utilização de força, bem como o treinamento resistido, treinamento funcional, powerlifting, levantamentos de pesos e outras modalidades que requerem essa valência física [6]. A utilização exógena de creatina se dá por meio da suplementação, normalmente da isoforma monohidratada, nas dosagens recomendadas pelas pesquisas e pareceres internacionais, que variam de 0,3 g a 0,5 g de creatina por quilograma de massa corporal [5-7]. Os principais efeitos do consumo exógeno são melhoras ergogênicas e aumento de força muscular, além de potenciais efeitos preventivos a lesões, proteção das células neurais e termorregulação corporal [1-8].

A creatina é a principal molécula de transporte de fosfato em meio intracelular [2]. Devido a isso, oferece a capacidade de converter adenosina difosfato em adenosina trifosfato, por meio da ação enzimática da creatina quinase [9]. Esse mecanismo confere ao músculo rápida regeneração energética para atividades de alta intensidade e utilização de força, próximas as capacidades máximas do indivíduo [10].

Genericamente, um homem de 70 quilos dispõe de 120 a 130mmol de creatina a cada quilo de massa corporal seca. Entretanto, ao fazer uso do suplemento, os estoques podem chegar a 160mmol [5]. Alguns estudos identificaram que dosagens altas de creatina disponível para as células musculares beneficia a resistência muscular e a produção de torque [9,11-13]. Ainda, alguns autores pontuam que a creatina pode apresentar potenciais efeitos anti-inflamatórios [14], fato que ainda não é conhecido por completo na literatura. Não obstante, a disponibilidade aumentada de creatina para o tecido nervoso apresenta melhoras funcionais e potencial efeito protetor [16].

Em uma perspectiva histórica, a creatina já foi considerada um suplemento nocivo à saúde, principalmente aos rins [17]. Todavia, na atualidade estudos vão de encontro com os resultados das primeiras observações a respeito da creatina, apresentando à comunidade científica que a utilização do suplemento em dosagens recomendadas pelas entidades internacionais apresenta estritamente efeitos positivos [17-20]. E em caso de dosagens acima das recomendadas, é observado, frequentemente na literatura, um aumento da atividade do trânsito intestinal. Os prejuízos renais observados anteriormente, salvaguardado os casos de

pacientes que já apresentam ou apresentaram doenças nesse órgão [21], parece não ter relações com o uso suplementar de creatina exógena [5,7].

Diante de uma vasta literatura a respeito do tema, bem como dos avanços científicos que permitiram compreender os efeitos da creatina em diversos sistemas, poucos estudos elucidam a relação do aumento do volume celular de fibras musculares associadas ao uso do suplemento [22], fato esse que representa uma lacuna no conhecimento acerca desta temática. O aumento da área de secção transversa está diretamente associado a uma melhora da produção de força [9] e diminuição da perda de massa muscular [11], além de maior produção de torque [13]. Tais efeitos podem ser benéficos em muitas situações, desde atletas que buscam melhoras de desempenho [1] até idosos que sofrem de doenças degenerativas que afetam o sistema musculoesquelético [14].

### Objetivo

Analisar os efeitos morfométricos e estereológicos do uso de creatina monoidratada em associação ou não ao treinamento de força no tecido musculoesquelético de animais da espécie *Rattus norvegicus* var. *albinus*

### Material e métodos

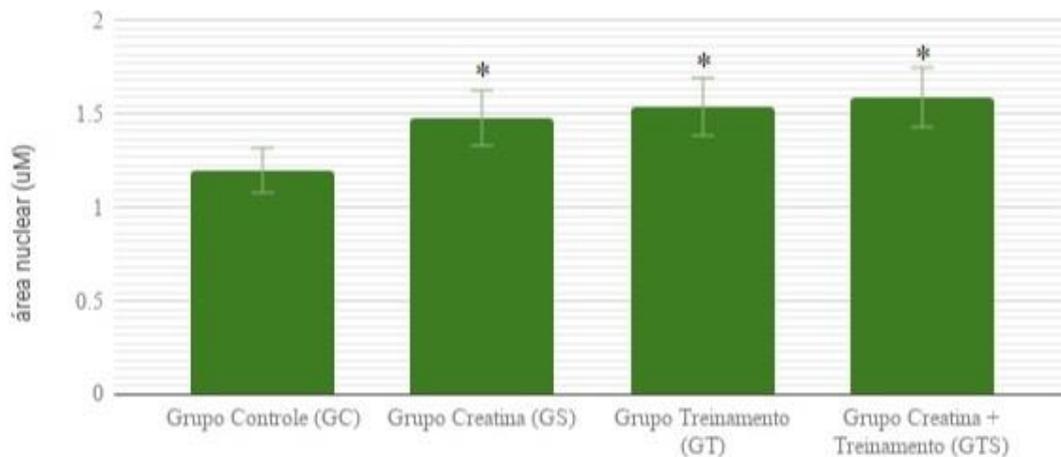
O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa animal da Faculdade de Medicina de Jundiaí sob o parecer número 490/12. É válido salientar que todos os procedimentos aplicados seguiram os protocolos de organizações de bons tratos aos animais e respeito aos modelos experimentais, redigidos por entidades nacionais e internacionais de regulamentação e ética em pesquisa.

Foram selecionados 24 animais da espécie *Rattus norvegicus* var. *albinus*, do filo dos roedores e da classe dos mamíferos. Esses animais foram organizados em quatro grupos, cada um com seis animais. O grupo controle (GC) recebeu exclusivamente ração e água ad libitum 24 horas por dia e com ciclo de 12/12 de luz. O grupo suplementado com creatina (GS) recebeu o mesmo tratamento alimentar que o primeiro grupo, entretanto, três vezes semanais (segundas, quartas e as sextas-feiras), durante nove semanas, recebeu a suplementação de 0,3 g de creatina monoidratada por quilograma de massa corporal (via gavagem). O grupo treinamento (GT), assim como os outros grupos, teve a mesma dieta e padrão de sono e claridade, todavia praticou as segundas, quartas e sextas-feiras, durante nove semanas, um protocolo de treinamento de força, com aumento de carga progressiva. O grupo treinamento e suplementação de creatina (GTS) recebeu o tratamento do grupo GS em associação ao grupo GC, estabelecendo assim um grupo que fez uso do suplemento e do treinamento durante o período de nove semanas.

Após o período experimental, os animais repousaram por 48 horas e foram induzidos anestésicamente com etoxietano, promovendo ação depressora do sistema nervoso central. Sequencialmente os mesmos foram eutanaziados em equipamento de CO<sub>2</sub>, evitando assim qualquer sofrimento ao animal. Os tecidos musculares do bíceps braquial e do latíssimo do dorso foram então retirados dos animais e seguiu-se o protocolo de estudo histológico em hematoxilina e eosina, proposto por Fernandes *et al.* [15] para verificação em microscopia de luz. Foram utilizadas objetivas com aumento em 10, 40 e 100X. A morfometria foi realizada por meio de uma ocular integradora, ocular quadriculada e morfometria computadorizada feita pelo software Image Tool modelo 3.0 (desenvolvido pela UTHSCSA). A análise estatística foi conduzida no software BioState (versão LE 6.9.1.0)

### Resultados

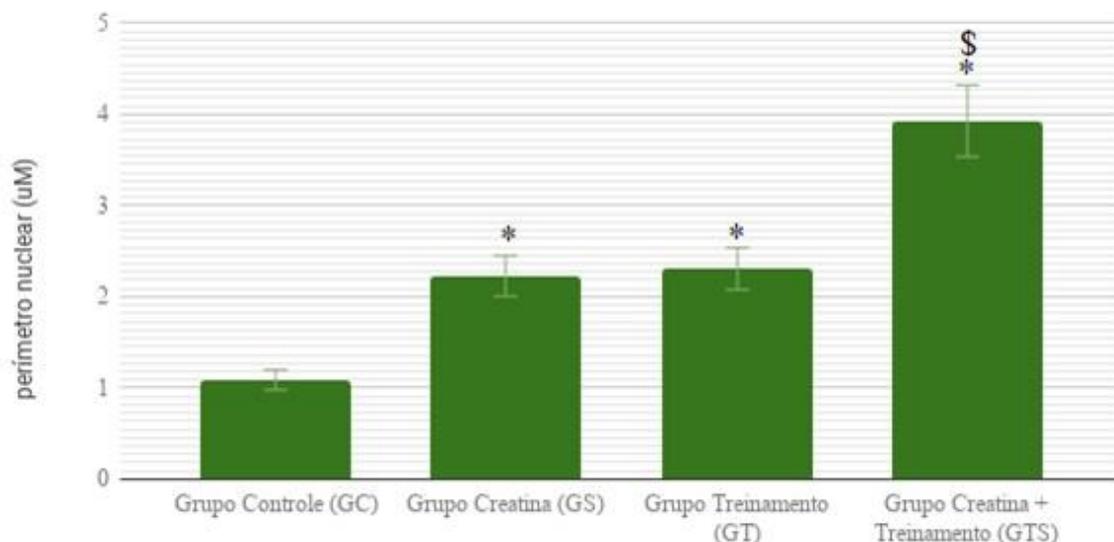
Com o objetivo de verificar as alterações morfométricas e estereológicas frente ao uso do suplemento creatina monoidratada em associação ou não ao treinamento de força, os núcleos e os citoplasmas dos miócitos foram analisados. A seguir, os gráficos de 1 a 8 apresentam os resultados observados. Posteriormente as imagens dos tecidos serão apresentadas.



Morfometria da área nuclear das fibras do músculo bíceps braquial em diferentes condições conforme o protocolo experimental. O sinal \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle. A análise estatística utilizada foi Anova one way assumindo o  $p < 0,05$  e com teste de verificação de Kruskal-Wallis para cada grupo do experimento. Estatística realizada no software BioState (Versão LE 6.9.1.0)

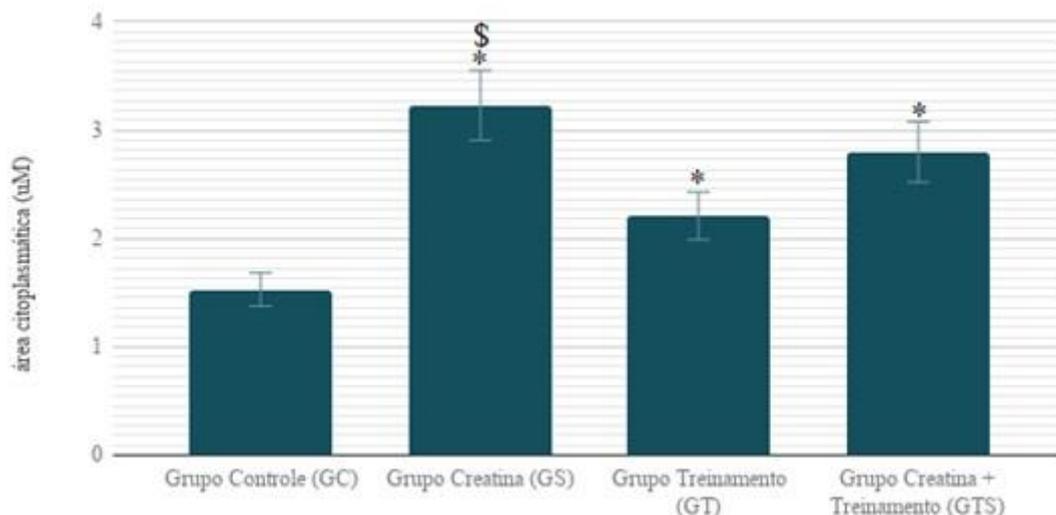
**Gráfico 1** – Área dos núcleos das fibras musculares do músculo bíceps braquial

Após a análise morfométrica da área nuclear, seguiu-se a verificação do perímetro desta importante organela eucariótica. Nesse sentido, o gráfico dois apresenta os resultados observados.



A sinalização com \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle. A sinalização com \$ apresenta diferença estatística aos outros grupos do experimento. O tratamento estatístico utilizado foi Anova one way assumindo o  $p < 0,05$  e com teste de verificação de Kruskal-Wallis para cada grupo do estudo. Estatística realizada no software BioState (Versão LE 6.9.1.0)

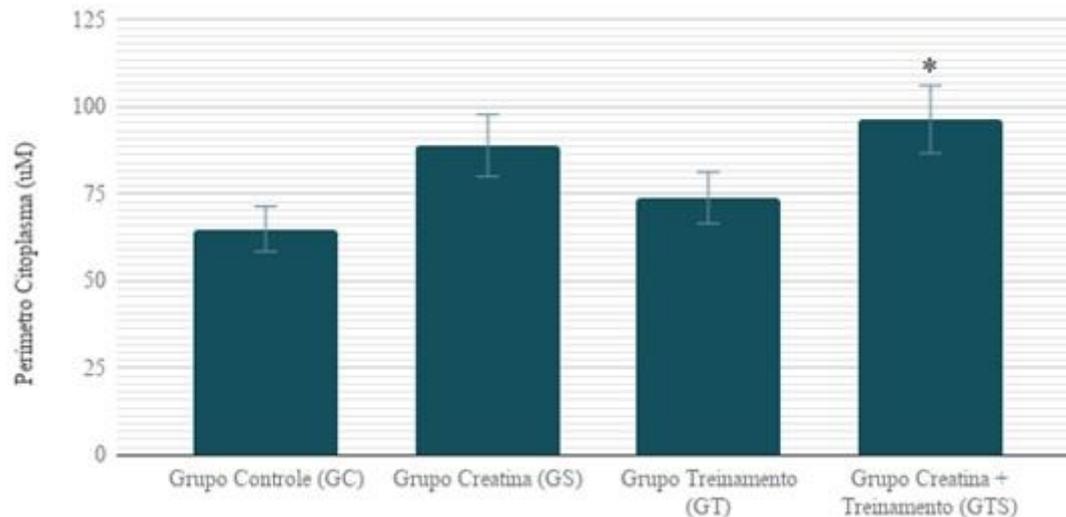
**Gráfico 2** - Análise morfométrica do perímetro nuclear das fibras do músculo bíceps braquial



Análise morfométrica da área sarcoplasmática das fibras do músculo bíceps braquial dos grupos experimentais. A sinalização com \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle. A sinalização com \$ apresenta diferença estatística aos outros grupos do experimento. O tratamento estatístico utilizado foi Anova one way assumindo o  $p < 0,05$  e com teste de verificação de Kruskal-Wallis para cada grupo do estudo. Estatística realizada no software BioState (Versão LE 6.9.1.0)

**Gráfico 3** – Área sarcoplasmática das fibras músculo-esqueléticas do músculo bíceps braquial

As análises morfométricas do núcleo celular devem ser sempre acompanhadas das análises morfométricas citoplasmáticas [15], nesse sentido, buscando estabelecer relações entre as duas regiões celulares mais evidentes em microscopia de luz. Assim, os próximos gráficos (três e quatro) ilustram as observações do sarcoplasma dos miócitos dos grupos deste estudo.



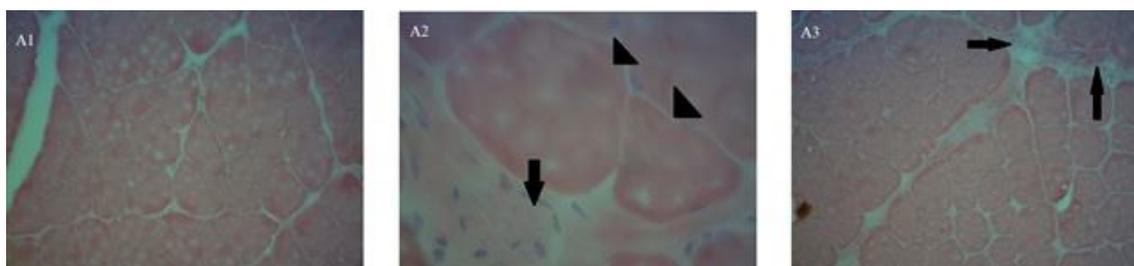
Análise morfométrica do perímetro sarcoplasmático das fibras do músculo bíceps braquial. A sinalização com \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle. O tratamento estatístico utilizado foi Anova one way assumindo o  $p < 0,05$  e com teste de verificação de Kruskal-Wallis para cada grupo do estudo. Estatística realizada no software BioState (Versão LE 6.9.1.0)

**Gráfico 4** – Perímetro sarcoplasmático das fibras músculo-esqueléticas do músculo bíceps braquial

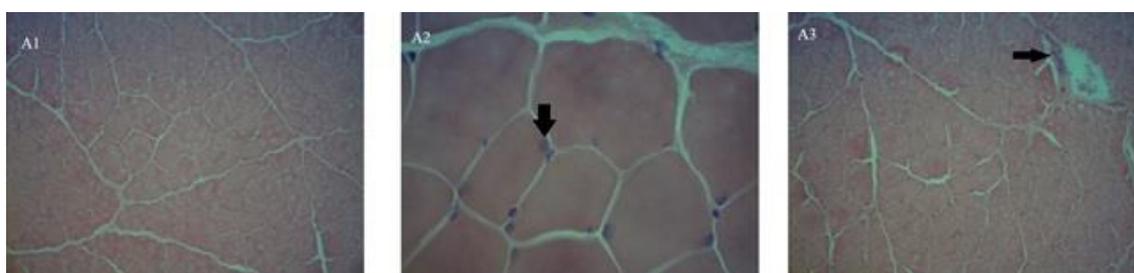
Em conjunto com a morfometria foi realizada a análise estereológica, que consiste em observar as condições teciduais e as modificações frente aos diversos tratamentos propostos neste estudo. Assim, as imagens a seguir apresentam a esterologia do músculo bíceps braquial.



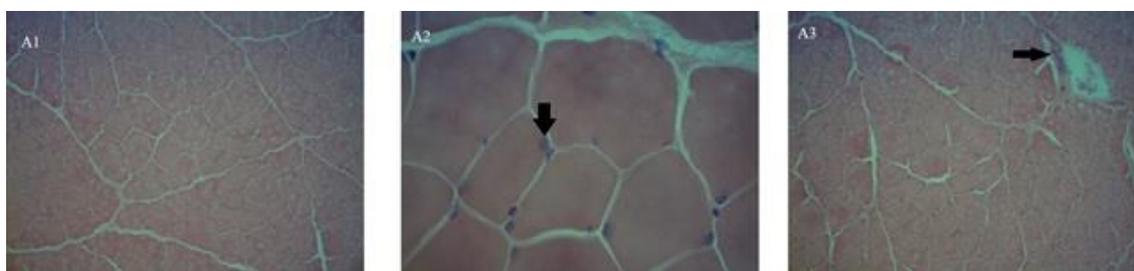
**Figura 1** - Grupo controle do estudo. A1 apresenta corte histológico do músculo bíceps braquial dando maior atenção a região estromal do tecido (seta). Aumento de 10X. A2 apresenta o corte histológico do músculo bíceps braquial com grande área de tecido muscular, aumento de 10X. A3 apresenta o corte histológico do bíceps braquial com aumento de 40X. Identificados em roxo os núcleos celulares e em vermelho ou roseado os citoplasmas



**Figura 2** - Grupo suplementado com creatina monoidratada. A1 apresenta corte histológico do músculo bíceps braquial em objetiva de 10X, assim como o quadro A3 (que identifica pela seta a área estromal). A2 apresenta o corte histológico com aumento de 40X e identifica uma região de sustentação do tecido muscular, área de estroma (seta), próximo a fibra (cabeça de seta)

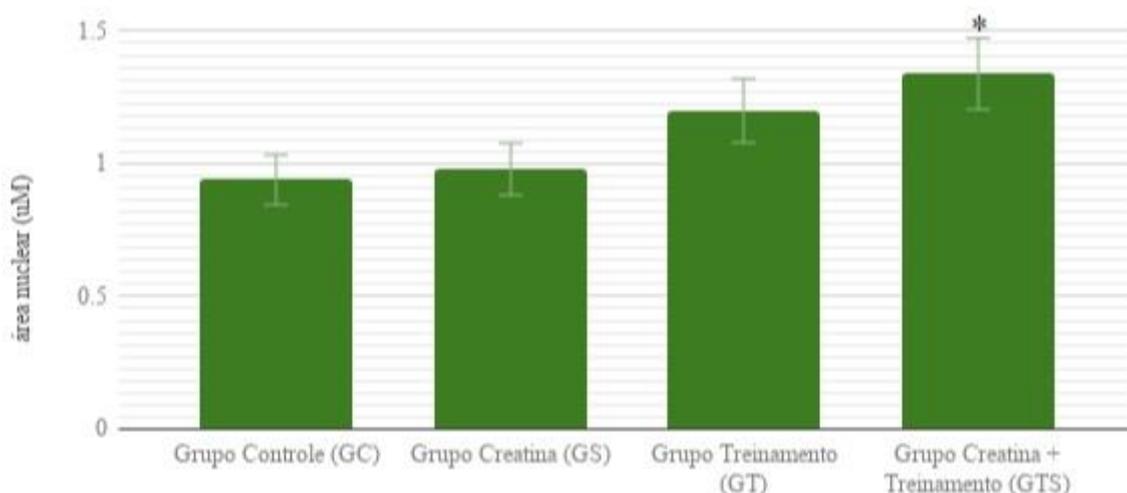


**Figura 3** - Grupo treinamento de força. A1 apresenta o corte histológico do bíceps braquial em aumento de 10X, assim como o quadro A3. A seta no quadro A3 identifica uma região de intensa atividade de células do sistema fagocitário mononuclear, próximos ao lúmen de uma artéria. A2 identifica o corte com aumento de 40X e a seta apresenta um núcleo da fibra muscular



**Figura 4** - Grupo treinamento e suplementados com creatina monoidratada. A1 identifica o corte histológico do bíceps braquial com aumento de 40X. A2 e A3 estão apresentando o corte com aumento de 10X. A seta em A3 identifica uma região com intensa atividade de células do sistema fagocitário mononuclear, em área estromal

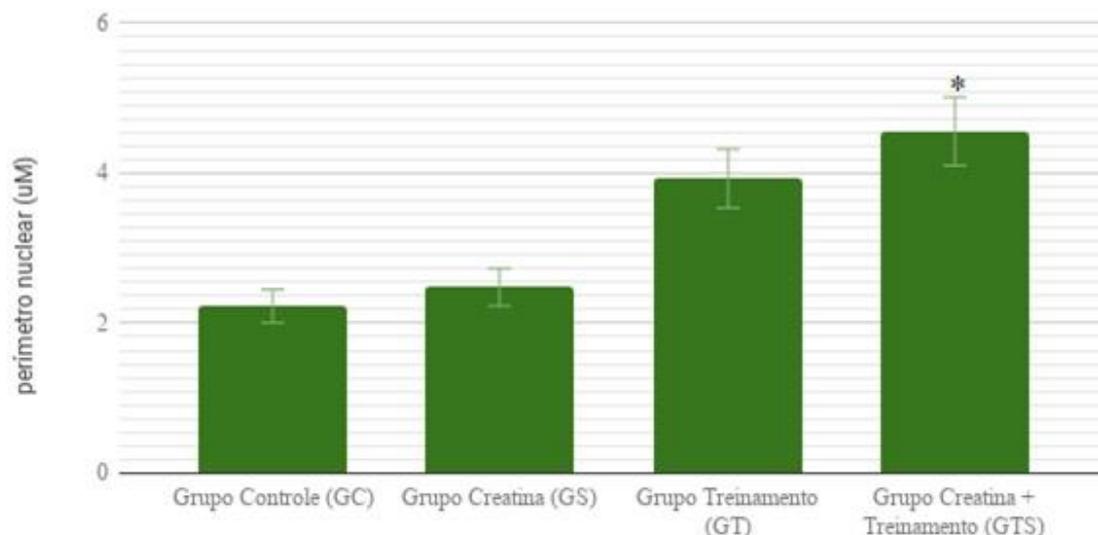
Os resultados observados nos músculos latíssimo do dorso foram diferenciados dos observados no músculo bíceps braquial. Os gráficos a seguir expressam as observações das áreas e perímetros nucleares e, posteriormente, sarcoplasmáticos.



Análise morfométrica da área nuclear das fibras do músculo latíssimo do dorso dos grupos experimentais. A sinalização com \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle. O tratamento estatístico utilizado foi Anova one way assumindo o  $p < 0.05$  e com teste de verificação de Kruskal-Wallis para cada grupo do estudo. Estatística realizada no software BioState (Versão LE 6.9.1.0)

**Gráfico 5** – Área dos núcleos das fibras musculares do músculo latíssimo do dorso

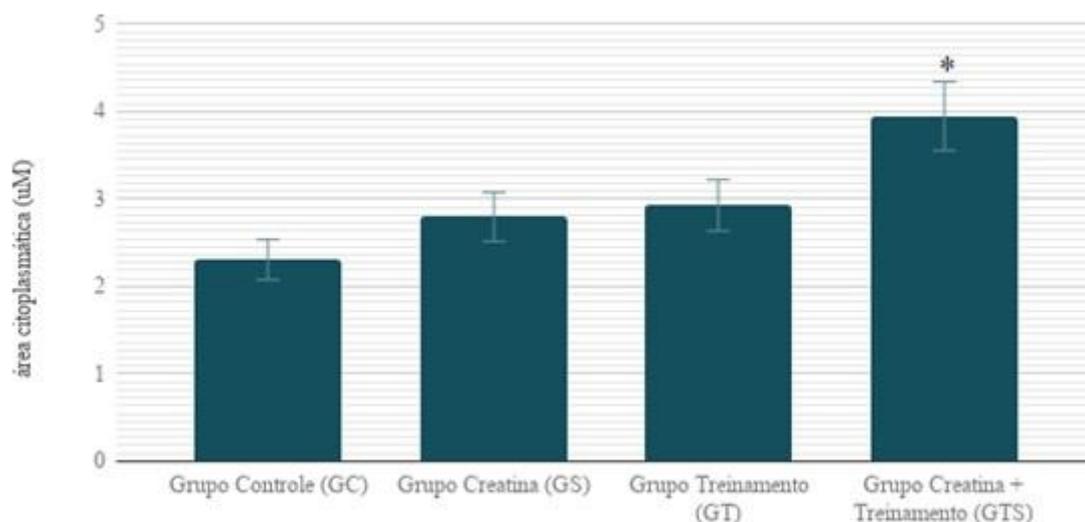
A análise morfométrica do perímetro nuclear das fibras do latíssimo do dorso indicaram que esse músculo se comportou de modo diferente do bíceps braquial. O gráfico 6 ilustra essa observação.



Análise morfométrica do perímetro nuclear das fibras do músculo latíssimo do dorso dos grupos experimentais. A sinalização com \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle. O tratamento estatístico utilizado foi Anova one way assumindo o  $p < 0,05$  e com teste de verificação de Kruskal-Wallis para cada grupo do estudo. Estatística realizada no software BioState (Versão LE 6.9.1.0)

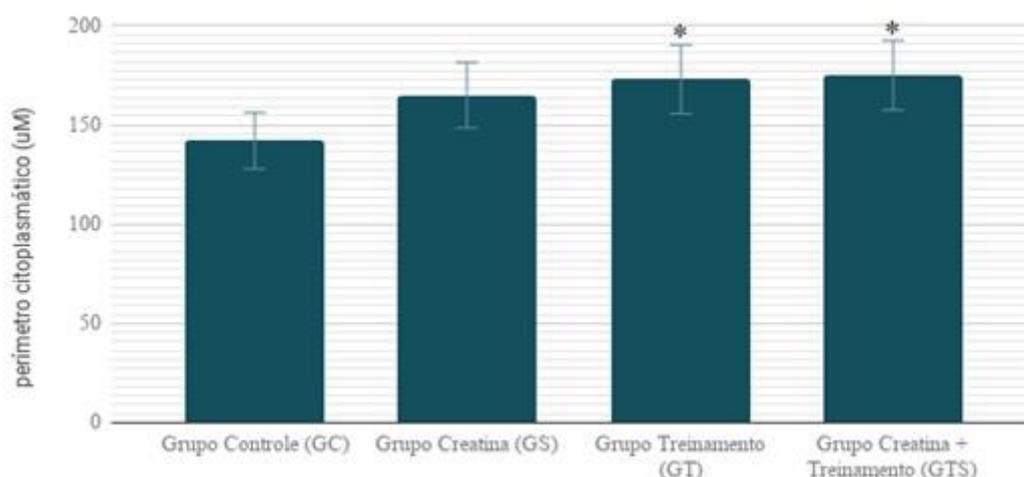
**Gráfico 6** - Perímetro dos núcleos das fibras musculares do músculo latíssimo do dorso

Conforme mencionado anteriormente, se faz necessária a comparação morfológica entre os núcleos e também entre os citoplasmas, que nesse estudo se trata do sarcoplasma, em estudos envolvendo a microscopia de luz. Nesse sentido, os gráficos sete e oito apresentam esses resultados.



Análise morfométrica da área sarcoplasmática das fibras do músculo latíssimo do dorso dos grupos experimentais. A sinalização com \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle. O tratamento estatístico utilizado foi Anova one way assumindo o  $p < 0,05$  e com teste de verificação de Kruskal-Wallis para cada grupo do estudo. Estatística realizada no software BioState (Versão LE 6.9.1.0)

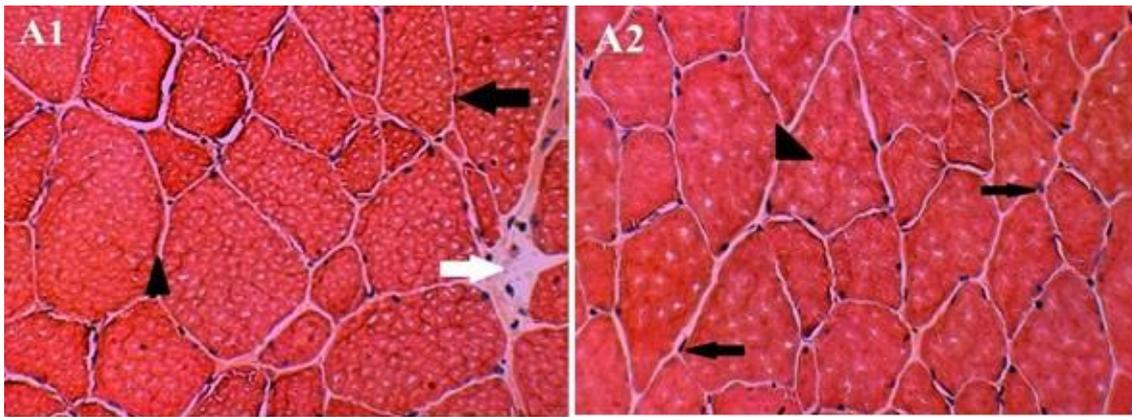
**Gráfico 7** – Área sarcoplasmática dos núcleos das fibras musculoesqueléticas do músculo latíssimo do dorso



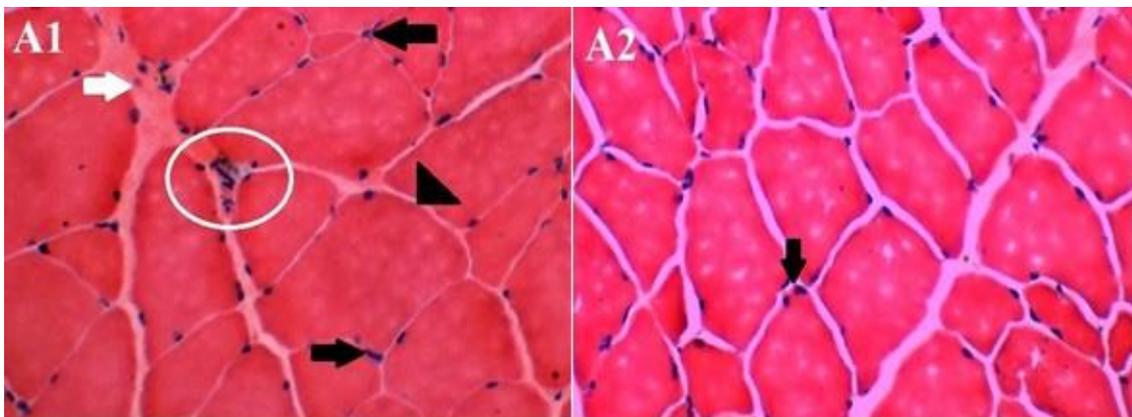
Análise morfométrica da área nuclear das fibras do músculo latíssimo do dorso dos grupos experimentais. A sinalização com \* indica diferença estatística em relação ao grupo controle. O tratamento estatístico utilizado foi Anova one way assumindo o  $p < 0,05$  e com teste de verificação de Kruskal-Wallis para cada grupo do estudo. Estatística realizada no software BioState (Versão LE 6.9.1.0)

**Gráfico 8** – Perímetro sarcoplasmático dos núcleos das fibras musculoesqueléticas do músculo latíssimo do dorso

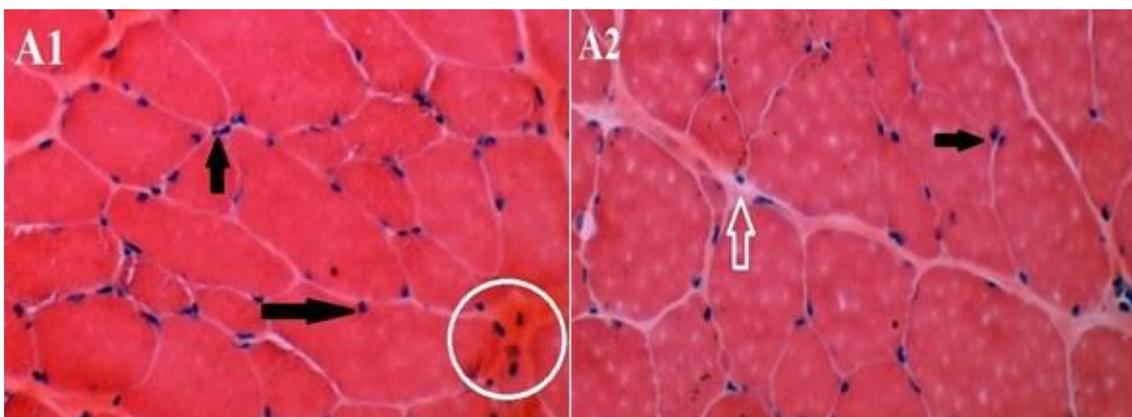
Posteriormente às análises morfométricas, o estudo da estereologia tecidual foi conduzido. As imagens a seguir apresentam o comportamento e as condições musculoesqueléticas frente aos tratamentos experimentados nesta pesquisa, no músculo latíssimo do dorso.



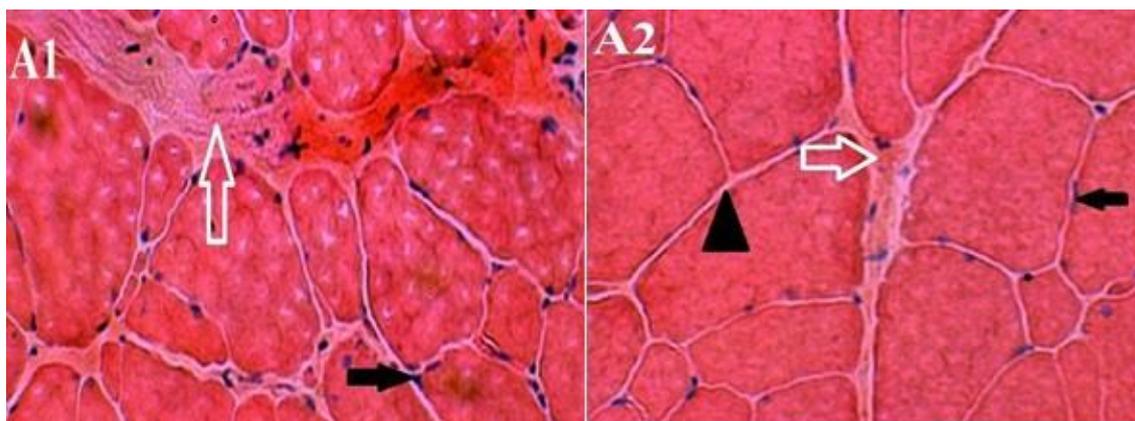
**Figura 5** - Grupo controle, cortes transversais do músculo latíssimo do dorso. A1 apresenta área muscular próxima do tecido estromal (evidenciado pela seta branca). A2 apresenta a região ventral do músculo. Cabeças de setas indicam o endomísio revestindo as fibras musculares. As setas pretas apontam para os núcleos periféricos do latíssimo do dorso. Objetiva de 40X



**Figura 6** - Grupo Creatina, cortes transversais do músculo latíssimo do dorso. A1 apresenta área muscular com intensa atividade de células do sistema fagocitário mononuclear (círculo branco), região estromal apontada pela seta branca e pela cabeça de seta preta o endomísio. As setas pretas indicam os núcleos periféricos do latíssimo do dorso. A2 apresenta uma área do ventre muscular. Objetiva de 40X



**Figura 7** - Grupo Treinamento, cortes transversais do músculo latíssimo do dorso. A1 apresenta ventral do músculo. O círculo branco evidencia área com células do sistema fagocitário mononuclear. Setas pretas aponta para os núcleos periféricos. O quadro A2 apresenta região associada a lamina de tecido conjuntivo, sendo indicada pela seta branca. Objetiva de 40X



**Figura 8** - Grupo treinado e suplementado com creatina, cortes transversais do músculo latíssimo do dorso. A1 apresenta região muscular com associação ao tecido estromal sendo indicado pela seta branca. A seta preta, tanto em A1 quanto no quadro A2, aponta para os núcleos celulares periféricos das fibras musculares. A cabeça de seta em A2 indica o endomísio e a seta branca indica o perimísio. Objetiva de 40X

Portanto, os resultados morfométricos indicaram uma diferenciação das condições nuclear e sarcoplasmática entre os grupos do experimento. Além disso, num comparativo entre os músculos analisados, também houve diferenças, apesar de ambos pertencerem ao mesmo sistema. Ainda, a presença de algumas células fagocitárias mononucleares persistentes após 48 horas de treinamento também são fatores que devem ser levados a discussões, haja vista a relação entre o reparo tecidual e a presença dessas células.

## Discussão

O tamanho nuclear e suas características são fatores fundamentais no diagnóstico patológico e no entendimento do comportamento celular em um determinado momento [22]. Entretanto, a maior parte dos estudos que investigam a morfologia desta organela se concentram em aspectos qualitativos, deixando os quantitativos em segundo plano [23]. O mesmo é válido para outras regiões celulares, tal qual o citoplasma ou, como no caso da presente pesquisa, o sarcoplasma [24].

Nas ciências que investigam os fenômenos esportivos, há uma concentração maior dos pesquisadores na área molecular e seus efeitos observáveis frente as diferentes práticas de treinamento e atividade física [25-30]. Não obstante, poucos pesquisadores desse segmento aprofundam os estudos nas modificações morfológicas e no uso de técnicas histológicas para a verificação de tais alterações, em especial na Educação Física, profissão que tem grande interesse pelas descobertas dos efeitos do exercício no organismo [31].

No presente estudo se deu preferência, portanto, aos aspectos quantitativos e qualitativos, buscando assim preencher algumas lacunas do conhecimento acerca desta temática.

Os resultados observados, no que diz respeito ao núcleo celular do músculo bíceps braquial, mostraram que o tratamento com creatina monoidratada, feito no GS, durante o período de nove semanas via gavagem três vezes semanais, aumentou a área nuclear em 0,46  $\mu\text{m}$ , em comparação ao grupo controle. Todavia, o treinamento praticado pelo grupo três também modificou a área nuclear, aumentando-a em aproximadamente 0,52  $\mu\text{m}$ , em comparação ao grupo controle. Mas a modificação morfométrica mais evidente nessa variável analisada se deu no grupo que foi suplementado e executou o programa de treinamento ao longo do período de nove semanas, com 0,57  $\mu\text{m}$  de aumento.

Esses aumentos também são observados no perímetro nuclear, fato que pôde ser expresso em 1,14  $\mu\text{m}$  para o grupo creatina, 1,22  $\mu\text{m}$  para o grupo treinamento e 2,84  $\mu\text{m}$  para o grupo treinamento e suplemento, de aumento dessa variável.

É importante destacar que o grupo treinamento e suplementação com creatina (grupo GTS) apresentou valores que, estatisticamente, significaram maior expressividade e diferenciados que os demais grupos do estudo, além do grupo controle. Esse resultado permite inferir que os tratamentos empregados nesta pesquisa, quando utilizados em conjunto, resultam

em modificações morfométricas do núcleo celular das fibras do bíceps braquial de maneira efetiva.

Esse achado pode complementar as informações obtidas em outros estudos, por exemplo, o que foi realizado por Torok *et al.* [32], no qual verificam os efeitos da suplementação de creatina antes do uso de doxorubicin em ratos machos. É válido destacar que o doxorubicin se trata de um medicamento utilizado no controle de alguns tipos de câncer e tem como efeito colateral aumento da fadiga e fraqueza muscular [32]. Diante disso, os pesquisadores avaliaram os potenciais efeitos atenuantes da creatina frente ao uso desse medicamento. Os resultados apresentados evidenciaram que o uso do suplemento diminuiu a fadiga do músculo sóleo dos animais e atenuou a perda da força de pressão da pata dos animais que foram submetidos ao tratamento com doxorubicin.

Ao se comparar os achados de Torok *et al.* [32] com os resultados observados na presente pesquisa, salvaguardados os modelos experimentais, pode-se inferir uma linha de relação entre o aumento da área nuclear e do perímetro dessa organela com a melhora da resistência a fadiga observada pelos pesquisadores. Se conhece, desde os anos de 1985, com o advento dos avanços das pesquisas a respeito do ciclo celular, que no núcleo de uma célula eucariota há vasta quantidade de material genético que controla a síntese de proteínas com as mais diversas finalidades, desde estruturação, transporte até atividade metabólica da célula, e que em núcleos interfásicos com grande atividade de síntese proteica, a organela tende a aumentar o seu tamanho [33]. Logo, a utilização de creatina monoidratada poderia estimular a síntese de algumas proteínas que são elementares no aumento ou desenvolvimento da força das fibras musculares [34].

A exemplo disso, Gualano *et al.* [35] identificaram, através de uma revisão sistemática da literatura, que a utilização de creatina monoidratada como suplemento alimentar pode alterar a transcrição de ácidos ribonucleicos regulatórios da miogênese, além disso, o uso de creatina também poderia contribuir com uma maior tradução proteica que resulta em aumento do volume celular, tais como a fosfatidil inositol-3-quinase, proteínas quinase B, a proteína alvo de rapamicina de mamíferos do tipo II, dentre outras.

A principal dúvida que surge diante dos efeitos ergogênicos da creatina monoidratada é se o uso dessa molécula apresenta tais modificações moleculares, e como observado na presente pesquisa histológicas, mesmo sem a prática do exercício físico. Diante disso, os gráficos 1 e 2 podem ilustrar os resultados observados, nos quais foram comparados o uso desse suplemento com e sem o programa de treinamento de força.

A área e o perímetro nuclear do grupo apenas suplementado com creatina, ou seja, o grupo dois, obteve valores menores que o grupo treinado exclusivamente. Todavia, os resultados observados na área e no perímetro citoplasmático do grupo apenas suplementado foram maiores que o grupo treinado, grupo três. Tais observações corroboram resultados de outros estudos que identificaram que o uso isolado da creatina aumenta diversas vias proteicas que estão predominantemente localizadas no citoplasma celular, principalmente as que necessitam do transporte de fosfato para sua atividade [35]. Porém, como já é de conhecimento amplamente difundido, o exercício físico é um potente agente epigenético, que potencializa a transcrição genética e por consequência leva ao aumento da atividade nuclear [36]. Fato esse que pode ser observado na presente pesquisa por meio do aumento da área e perímetro dessa organela.

Diante dos resultados observados e da literatura disponível a respeito desse tema, pode-se inferir que os efeitos ergogênicos da creatina, pelo menos no que diz respeito as modificações morfométricas do núcleo do bíceps braquial de ratos precisam estar associados a prática do treinamento de força.

Os resultados dos músculos latíssimos do dorso que foram removidos dos animais organizados nos grupos do experimento foram tão interessantes quanto os do bíceps braquial. É válido destacar que, apesar de ambos os tecidos extraídos serem músculos estriados esqueléticos, o bíceps braquial é composto predominantemente por fibras paralelas que se inserem em um único tendão fusiforme, fato esse que leva a um comportamento mecânico diferenciado do latíssimo do dorso, que se trata de um vasto músculo com fixações em locais diferentes (processos espinhosos, transversos e corpos vertebrais de vértebras torácicas e lombares; crista ilíaca e fáscia toracolombar), além de possuir fibras com trajetos oblíquos em algumas partes desse músculo, logo o comportamento mecânico dele é particularizado e reconhecido de modo diferente do bíceps braquial [37]. Todavia, ambos os músculos estão envolvidos no movimento de escalada realizado pelos animais no protocolo de treinamentos proposto nesta pesquisa, sendo uma análise complementar e, em perspectivas mecânicas, diversificada.

No músculo latíssimo do dorso foram menos significativas as diferenças entre os grupos para as variáveis área e perímetro nuclear, estando apenas o grupo quatro, treinamento e creatina, com diferenças observáveis. Isso valendo para a área e perímetro citoplasmático. Esse resultado corrobora as identificações descritas acima, a respeito de que os efeitos da suplementação de creatina serão melhor aproveitados se estiverem associados a prática de exercícios.

É importante destacar que um músculo produz torque ao longo de todo o seu comprimento, bem como na região musculotendínea que também sofre os efeitos do tracionamento provocado inicialmente na área ventral do músculo [38-40]. Diante disso, toda a região muscular apresenta-se com uma área de secção transversa adaptada na produção do torque [41].

Um fator que também deve ser levado em consideração diante dos resultados promissores observados na presente pesquisa é que o uso da creatina em associação ao treinamento, mostrou-se mais eficiente que o uso isolado na molécula ou apenas do treinamento, no que diz respeito as modificações morfométricas nucleares e citoplasmáticas do bíceps braquial e do latíssimo do dorso, bem como as estimativas de produção de tensão muscular desses músculos. Sabe-se que quanto mais forte o músculo, maior será também a magnitude da contração isométrica desse [39,41,42]. Nesse sentido, o aumento da área de secção transversa está intimamente relacionado ao aumento da força muscular, além de ter sido comprovado por muitos estudos que a creatina potencializa os ganhos dessa valência, percebe-se por essa via, portanto, que o uso de creatina e do exercício resistido pode ser uma alternativa eficiente no tratamento complementar da perda de força e massa magra em idosos ou em doenças degenerativas, por exemplo [14]. Somado a isso, constata-se uma grande lacuna do conhecimento no que diz respeito as modificações imunológicas causadas pela associação das terapias experimentadas nesta pesquisa, fato que deve ser profundamente estudado, haja vista as recentes observações de que o exercício é um importante agente no avanço da imunossenescência [43].

## Conclusão

Conclui-se, diante dos resultados e da literatura sobre o tema já produzida, que a creatina monoidratada em associação ao treinamento produz modificações morfométricas no núcleo celular e no citoplasma das fibras musculares de ratos, de maneira mais eficiente que o suplemento ou o treinamento administrados isoladamente.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao apoio financeiro oferecido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Núcleo de Pesquisa e Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Jundiaí (NAPED/FMJ).

## Referências

1. Lanhers C, Pereira B, Naughton G, Trousselard M, Lesage FX, Dutheil F. Creatine supplementation and upper limb strength performance: a systematic review and meta-analysis. *Sports Med* 2017;47(1):163-73. <https://doi.org/10.1007/s40279-016-0571-4>
2. Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev* 2000;80:1107-213. <https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.3.1107>
3. Ipsiroglu OS, Stromberger C, Ilas J, Höger H, Mühl A, Stöckler-Ipsiroglu S. Changes of tissue creatine concentrations upon oral supplementation of creatine-monohydrate in various species. *Life Sciences* 2001;69(15):1805-15. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(01\)01268-1](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(01)01268-1)
4. Hall M, Trojian T. Creatine supplementation. *Current Sports Medicine Reports* 2013;12(4):240-4. <https://doi.org/10.1249/JSR.0b013e31829cdff2>
5. Kreider RB, Kalman DS, Antonio J, Ziegenfuss TN, Wildman R, Collins R et al. International society of sports nutrition position stand: safety and efficacy of creatine supplementation in exercise, sport and medicine. *J Int Soc Sports Nutr* 2017;14:18. <https://doi.org/10.1186/s12970-017-0173-z>

6. Antonio J, Ciccone V. The effects of pre versus post workout supplementation of creatine monohydrate on body composition and strength. *J Inter Soc Sports Nutr* 2013;10:36. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-10-36>
7. Rawson ES, Miles MP, Larson-Meyer DE. Dietary supplements for health, adaptation, and recovery in athletes. *International Journal of Sports Nutrition and Exercise Metabolism* 2018;28:188-99. <https://doi.org/10.123/ijsnem.2017-0340>
8. Racette SN. Creatine supplementation and athletic performance. *J Orthop Sports Phys Ther* 2003;33(10):615-21. <https://doi.org/10.2519/jospt.2003.33.10.615>
9. Claudino JG, Mezêncio B, Amaral S, Zanetti V, Benatti F, Roschel H et al. Creatine monohydrate supplementation on lower-limb muscle power in brazilian elite soccer players. *Int Soc Sports Nutr* 2014;11:32. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-11-32>
10. Percário S, Domingues SP, Teixeira LF, Vieira JL, Vasconcelos F, Ciarrocchi DM et al. Effects of creatine supplementation on oxidative stress profile of athletes. *J Int Soc Sports Nutr* 2012;9(1):56. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-9-56>
11. Kaviani M, Abassi A, Chilibeck PD. Creatine monohydrate supplementation during eight weeks of progressive resistance training increases strength in as little as two weeks without reducing markers of muscle damage. *J Sports Med Phys Fitness* 2019;59(4):608-12. <https://doi.org/10.23736/s0022-4707.18.08406-2>
12. Zuniga J, Housh T, Camic C, Hendrix C, Mielke M, Johnxon G, Housh D, Schimidt R. The effects of creatine monohydrate loading on anaerobic performance and one-repetition maximum strength. *J Strength Cond Res* 2012;26(6):1651-6. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e318234eba1>
13. Cramer JT, Stout JR, Culbertson JY, Egan AD. Effects of creatine supplementation and three days of resistance training on muscle strength power output, and neuromuscular function. *J Strength Cond Res* 2007;21(3):668-77. <https://doi.org/10.1519/R-20005.1>
14. Riesberg LA, Weed SA, McDonald TL, Eckerson JM, Drescher KM. Beyond Muscles: the untapped potential of creatine. *Int Immunopharmacol* 2016;37:31-42. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.12.034>
15. Fernandes VAR, Col LO, Moura EG, Matos MO, Caldeira EJ, Conte E. Treinamento de força e seus efeitos sobre a área de secção transversa e perímetro celular de miócitos do gastrocnêmio de rattus novergicus. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva* 2018;12(73):675-9.
16. Gualano B, Rawson ES, Candow DG, Chilibeck PD. Creatine supplementation in the aging population: effects on skeletal muscle, bone and brain. *Amino Acids* 2016;48(8):1793-1805. <https://doi.org/10.1007/s00726-016-2239-7>
17. Pritchard NR, Kalra PA. Renal dysfunction accompanying oral creatine supplements. *Lancet* 1998;351:1252-3. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)79319-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)79319-3)
18. Gualano B, Ugrinowitsch C, Seguro AC, Lancha Junior AH. Does creatine supplementation harm renal function? *Rev Bras Med Esporte* 2008;14(1):68-73. <https://doi.org/10.1093/ndtplus/sfq177>
19. Barcelos RP, Stefanello ST, Mauriz JL, Gonzalez-Gallego J, Soares FA. Creatine and the liver: metabolism and possible interactions. *Mini Rev Med Chem* 2016;16(1):12-8. <https://doi.org/10.2174/1389557515666150722102613>
20. Yoshizumi WM, Tsourounis C. Effects of creatine supplementation on renal function. *J Herb Pharmacother* 2004;4(1):1-7. [https://doi.org/10.1080/J157v04n01\\_01](https://doi.org/10.1080/J157v04n01_01)
21. Galvan E, Wlaker DK, Simbo SY, Dalton R, Levers K, O'Connor A et al. Acute and chronic safety and efficacy of dose dependent creatine nitrate supplementation and exercise performance. *J Int Soc Sports Nutr* 2016;13:12. <https://doi.org/10.1186/s12970-016-0124-0>
22. Barisic N, Bernert G, Ipsiroglu O, Stromberger C, Müller T, Gruber S et al. Effects of oral creatine supplementation in a patient with MELAS phenotype and associated nephropathy. *Neuropediatrics* 2002;33(3):157-61. <https://doi.org/10.1055/s-2002-33679>
23. Mukherjee RN, Chen P, Levy DL. Recent advances in understanding nuclear size and shape. *Nucleus* 2016;7(2):167-86. <https://doi.org/10.1080/19491034.2016.1162933>
24. Walters AD, Bommakanti A, Cohen-Fix O. Shaping the nucleus: Factor and forces. *J Cell Biochem* 2012;113:2813-21. <https://doi.org/10.1002/jcb.24178>
25. Haun CT, Vann CG, Osburn SC, Mumford PW, Roberson AP, Romero MA et al. Muscle fiber hypertrophy in response to 6 weeks of high-volume resistance training in trained young men is largely attributed to sarcoplasmic hypertrophy. *PLOS ONE* 2019;14(6):e021567. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215267>

26. Mobley CB, Haun CT, Roberson PA, Mumford PW, Kephart WC, Romero MA et al. Biomarkers associated with low, moderate, and high vastus lateralis muscle hypertrophy following 12 weeks of resistance training. *Plos One* 2018;13(4):e0195203. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195203>
27. McGlory C, Devries MC, Philips SM. Skeletal muscle and resistance training: the role of protein synthesis in recovery and remodeling. *J Appl Physiol* (1985) 2017;122(3):541-8. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00613.2016>
28. Petrella JK, Kim JS, Mayhew DL, Cross JM, Bamman MM. Protein myofiber hypertrophy during resistance training in humans is associated with satellite cell-mediated myonuclear addition: a cluster analysis. *J Appl Physiol* (1985) 2008;104(6):1736-42. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.01215.2007>
29. Mitchell CJ, Curchward-Venne TA, Bellamy L, Parise G, Baker SK, Phillips SM. Muscular and systemic correlates of resistance training-induced muscle hypertrophy. *PLOS ONE* 2013;8(10):e78636. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078636>
30. Murton AJ, Greenhaff PL. Resistance exercise and the mechanisms of muscle mass regulation in humans: acute effects on muscle protein turnover and the gaps in our understanding of chronic resistance exercise training adaptation. *Int J Biochem Cell Biol* 2013;45(10):2209-14. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.07.005>
31. Passiakos SM, Carbone JW. Assessment of skeletal muscle proteolysis and the regulatory response to nutrition and exercise. *IUBMB life* 2014;66(7):478-84. <https://doi.org/10.1002/jub.1291>
32. Haun CT, Vann CG, Mobley CB, Osburn SC, Mumford PW, Roberson PA et al. Pre-training skeletal muscle fiber size and predominant fiber type best predict hypertrophic response to 6 weeks of resistance training in previously trained young man. *Front Physiol* 2019;10:297. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00297>
33. Tork ZA, Busekrus RB, Hydock DS. Effects of creatine supplementation on muscle fatigue in rats receiving doxorubicin treatment. *Nutr Cancer* 2019;11:1-8.
34. Alberts B, Johnson A, Walter P. Fundamentos de biologia celular. 5ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 2010.
35. Poli RAB, Roncada LH, Artioli GG, Zagatto AM, Malta ES, Bertuzzi R, Zagatto AM. Creatine supplementation improves phosphagen energy pathway during supramaximal effort, but does not improve anaerobic capacity or performance. *Front Physiol* 2019;10:352. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00352>
36. Gualano B, Aquesta FM, Ugrinowitsch C, Tricoli V, Serrão JC. Effects of creatine supplementation on strength and muscle hypertrophy: current concepts. *Rev Bras Med Esporte* 2010;16(3). <https://doi.org/10.1590/S1517-86922010000300013>
37. Fernandes J, Arida RM, Gomez-Pinilla F. Physical exercise as an epigenetic modulator of brain plasticity and cognition. *Neurosci Biobehav Rev* 2017;80:443-56. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.06.012>
38. Hall S. Biomecânica básica. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2012.
39. Souza EO, Tricoli V, Paulo AC, Silva-Batista C, Cardoso RK, Brum PC et al. Multivariate analysis in the maximum strength performance. *Int J Sports Med* 2012;33(12):970-4. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1314813>
40. Aagaard P, Andersen JL, Dyhre-Poulsen P, Leffers AM, Wagner A, Magnusson SP et al. A mechanism for increased contractile strength of human pennate muscle in response to strength training: changes in muscle architecture. *J Physiol* 2001;534:613-23. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.t01-1-00613.x>
41. Brooke MH, Kaiser KK. Muscle fiber type: how many and what kind? *Arch Neurol* 1970;23:369-379.
42. Winter D. Biomechanics and motor control of human movement. 4ªed. Chichester: John Wiley and Sons; 2009.
43. Duggal NA, Niemi G, Harridge SDR, Simpson RJ, Lord JM. Can physical activity ameliorate immunosenescence and thereby reduce age-related multi-morbidity? *Nature Reviews Immunology* 2019. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0177-9>